

一种最简单的姐妹染色单体区别染色法

A SIMPLE TECHNIQUE FOR THE DIFFERENTIAL STAINING OF SISTER CHROMATIDS

姐妹染色单体交换 (SCE) 测定, 由于操作简单, 观察客观, 又具有高度的敏感性, 因此是近年来颇受重视的一项细胞遗传学手段。并且已广泛应用于遗传学、临床医学及环境科学等方面的研究。下面我们就本实验室采用碱性磷酸缓冲液加吉姆萨染色, 能使已标记上BudR染色体的两条单体很好地区别染色的技术简单介绍如下:

一、BudR标记: 在细胞培养液中加入10—20微克/毫升的5—溴脱氧尿嘧啶核苷 (BudR 的用量必须视细胞株的特性在此范围内调整), 黑暗条件下培养两个细胞周期, 然后按常规收获细胞, 制作染色体标本。

二、区别染色: 制备好的染色体标本 (至少要在室温下放置一天) 直接用新配的0.3M磷酸氢二钠 (用1N氢氧化钠调pH至10左右, pH < 9 染色体的两条单体不能区别染色) 配制3%吉姆萨溶液, 染色10分钟, 自来水冲洗, 干燥镜检。

用这一方法染色的结果与一般常用的SCE染色相反。本方法深染部分为BudR标记的染色单体, 正好是常用SCE染色淡的那一条。姐妹染色单体分化染色的机理, 看法尚不一致。图2中一般常用的姐妹染色单体分化染色法, Wolg等认为是由于含BudR的染色体单体结合蛋白质不同造成分化染色。Zakharer等则认为可能是由于BudR可使染色体解旋, 而Burkholder则认为染色单体中被BudR取代的DNA容易被抽提出来, 因而染色单体中DNA减少, 吉姆萨染色的部分出现淡染色区。本方法的反带染色 (图1), Alvse等认为反向染色不是DNA的丢失, 而是碱性吉姆萨分解TB (一条染色单体其中一条为原有的DNA链, 另一条为BrdU取代的单链) 染色单体的蛋白质结构比分解BB (一条染色单体中的两条DNA链均被BudR所取代) 更为有效。

因本方法与其他一般常用的姐妹染色单体分化方法一样, 从图1, 2中, 可看出, 其交换率完全相同, 故它同样可用于对诱变剂的检测, 细胞动力学和遗传疾病的研究, 与其他方法比较, 本法一步完成, 较为简单。

叶银英 杨焕明 陈建芳

(南京铁道医学院生物学教研室)